

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการรูป	(8)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(9)
1. บทนำ	1
บทนำขึ้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	37
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	38
วัสดุ	38
อุปกรณ์และเครื่องมือ	39
วิธีการ	41
3. ผลการทดลอง	57
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	79
5. สรุปผลการทดลอง	83
เอกสารอ้างอิง	84
ภาคผนวก	109
ก	110
ข	113
ประวัติผู้เขียน	118

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 การทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อจิ้นัส <i>Vibrio</i>	4
1.2 อาการทางคลินิกที่เกิดจากการติดเชื้อในจิ้นัส <i>Vibrio</i>	7
1.3 ตารางแอนติเจนของ <i>V. parahaemolyticus</i>	15
1.4 ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Wagatsuma agar	21
1.5 ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ <i>trh2</i> เปรียบเทียบกับจิ้นอื่นๆ	26
2.1 ลำดับเบสของ primers และขนาดผลผลิต PCR	52
3.1 ลักษณะของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่แยกได้จาก ร.พ. หาดใหญ่ ระหว่าง พ.ศ. 2543-2548	58
3.2 ซีโรทัยป์และจำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ $tdh^+ trh^-$ และ GS-PCR positive ตั้งแต่ พ.ศ. 2543 - 2548	61
3.3 ซีโรทัยป์และจำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ $tdh^+ trh^+$ ตั้งแต่ พ.ศ. 2543 - 2548	62
3.4 ซีโรทัยป์และจำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ $tdh^- trh^+$ ตั้งแต่ พ.ศ. 2543 - 2548	63
3.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง <i>V. parahaemolyticus trh^+</i> และการสร้างเอนไซม์ urease	64
3.6 ผลการทดสอบความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i>	65
3.7 ผลการศึกษา swarming activity ที่ 37 °C ของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่แยกได้ระหว่างปี พ.ศ. 2543-2548	66
3.8 รูปแบบความไวต่อยาของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่แยกได้ระหว่างปี พ.ศ. 2543-2548	67
3.9 เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> จำนวน 63 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	68
3.10 ซีโรทัยป์ของ $tdh^- trh^+$ จำนวน 12 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	69
3.11 ซีโรทัยป์ของ $tdh^+ trh^+$ จำนวน 48 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	70
3.12 <i>Trh</i> subgroup ของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่ตรวจพบในสายพันธุ์ $tdh^- trh^+$ และสายพันธุ์ $tdh^+ trh^+$	76

## รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 ตำแหน่งของ primer (GS-VP1 และ GS-VP2) ที่อยู่ในส่วนของจีน <i>toxR</i> และ <i>toxS</i>	32
1.2 เทคนิคเซาเทอร์นบลอตติง	34
1.3 การตรวจหาจีนด้วยเทคนิคเซาเทอร์นบลอตติง	36
3.1 ผลการทำ PCR เพื่อตรวจหา <i>toxR</i> , <i>tdh</i> , <i>trh</i> และ GS-PCR	59
3.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> ซีโรทัยป์ O1:KUT ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2544-2548 โดยใช้ primer 2	72
3.3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> ซีโรทัยป์ O1:KUT ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2544-2548 โดยใช้ primer 4	73
3.4 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2544-2547 โดยใช้ primer 2	74
3.5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2544-2547 โดยใช้ primer 4	75
3.5 Southern blot hybridization ของ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> และ <i>tdh<sup>-</sup>trh<sup>+</sup></i> ด้วยตัวตรวจจับ <i>trh1</i>	77
3.6 Southern blot hybridization ของ <i>V. parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ <i>tdh<sup>+</sup>trh<sup>+</sup></i> และ <i>tdh<sup>-</sup>trh<sup>+</sup></i> ด้วยตัวตรวจจับ <i>trh2</i>	78

## สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

bp	=	base pair
kb	=	kilobase
μl	=	microlitre
ml	=	millilitre
L	=	litre
g	=	gram
mg	=	milligram
μg	=	microgram
ng	=	nanogram
mm	=	millimeter
cm	=	centrimetre
μm	=	micrometer
nm	=	nanometer
A	=	adenine
T	=	thymine
C	=	cytocine
G	=	guanine
dNTPs	=	deoxyribonucleic triphosphate
dUTP	=	deoxyuracil triphosphate
DNA	=	deoxyribonucleic acid
RNA	=	ribonucleic acid
RNase	=	ribonuclease
Tris	=	Tris (hydroxyl methyl) aminomethane
SDS	=	sodium dodecyl sulfat
EDTA	=	ethylene diamine tetraacetic acid
PCR	=	polymerase chain reaction
°C	=	degree celcius
kDa	=	kilodalton

### สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ (ต่อ)

OD	=	optical density
<i>Taq</i>	=	<i>Thermus aquaticus</i>
<i>HIND</i> III	=	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Bam</i> HI	=	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
<i>Eco</i> RI	=	<i>Escherichia coli</i> RY13
NBT	=	nitroblue tetrazolium chloride
BCIP	=	5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate
pH	=	hydrogen ion concentration
%	=	percentage
TCBS	=	thiosulfate citrate bile salt sucrose agar
ชม.	=	ชั่วโมง